

***Стрелкова Юлия Николаевна,***

*студент 4 курса,*

*биологический факультет,*

*кафедра физиологии, морфологии, генетики и биомедицины,*

*Астраханский Государственный Университет,*

*г. Астрахань*

## **ПРИМЕНИМОСТЬ ТЕСТА ЭЙМСА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ ВЕЩЕСТВ**

**Аннотация.** Химические вещества взаимодействуют с генами, приводя к вредным мутациям, потенциально вызывая рак и нанося вред нашему потомству, и сегодня это является главной экологической проблемой. Тест Эймса это один из лучших примеров для тестирования мутагенности, в то время как некоторые новые методы все еще находятся на стадии валидации.

**Ключевые слова:** тест Эймса, генотоксичность, мутагенность, контроль.

Мутагенностью веществ – способность этих веществ вызывать повреждение клетки и ее генетического материала, что влечет за собой изменение генотипа. Существует большое количество веществ, обладающих мутагенной активностью, которые вносят структурные изменения в хромосомы посредством ДНК-реактивных или не-ДНК-реактивных механизмов. К хромосомным абберациям относят делеции (удаление участка хромосомы), инверсии (изменение порядка генов участка хромосомы на обратный), дупликации (повторение участка хромосомы), транслокации (перенос участка хромосомы на другую хромосому) Следует также отметить, что хромосомные абберации потенциально могут приводить к канцерогенности [1].

Наиболее популярным в генетической токсикологии является метод учета обратных мутаций у *Salmonella typhimurium*. Штаммы дикого типа (прототрофы) способны к синтезу всех необходимых аминокислот из неорганического азота, если в среде есть источник углерода, например глюкоза. Штаммы

*Salmonella typhimurium*, были разработаны с генной мутацией в гистидиновом опероне, препятствующей синтезу аминокислоты гистидина.

Для увеличения чувствительности этих штаммов к мутагенам в генотип бактерий введены добавочные маркеры:

- мутация *rfa* была добавлена для легкого проникновения химического вещества через бактериальную стенку клетки. Благодаря этому вероятность ложноотрицательных ответов снижается;

- мутация в гене *uvrB* обуславливает дефект генетической репарации. В результате мутация не будет исправлена, а будет зарегистрирована, что также снижает вероятность ложнонегативного результата;

- плазмиды *rKM101* введена для увеличения чувствительности бактерии к мутагенам, например к ампицилину.

Таким образом, штаммы являются высокочувствительными, что очень важно на первом этапе скрининга мутагенов. При воздействии мутагенов у ауксотрофных бактерий может возникнуть обратная мутация к прототрофности (*his*<sup>-</sup> → *his*<sup>+</sup>). По частоте таких мутаций и определяется мутагенная активность фактора [4].

В данной статье описаны наиболее часто используемые штаммы *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1537 [2].

1. Штамм TA98 несет мутацию *his* D3052, фреймшифт мутацию типа-1. Реверсия к дикому типу происходит за счет делеции Ц-Г \ Г-Ц. Мутация *his* D3052 позволяет индуцировать мутации типа сдвига рамки считывания. В качестве позитивного контроля на мутацию *his* D3052 используется 4-нитрохиолин-N-оксид (4-НХО).

2. Мутация, *his* C3076 - это мутация сдвига рамки считывания штамма TA1537. Последовательность ДНК мутанта *his* C3076 до конца не известна, однако считается, что она содержит один добавленный цитозин к ряду из трех

цитозинов и супрессируется *suf B*. Вещество 9-аминоакридин (9-АА) используется как позитивный контроль на мутацию *his C3076*.

3. Штамм TA100 несет мутацию *his G46*, миссенс-мутацию, ревертирующую под действием многих мутагенов, индуцирующих замены пар оснований. В качестве положительного контроля на эту мутацию применяется азид натрия.

4. Штамм TA1535 содержит мутации в гене *hisG*, что приводит к аминокислотной замене лейцина на пролин (мутация замены пары оснований) [3].

В рамках международного рабочего совещания по генетической токсикологии (МРГТ) был учрежден комитет для оценки существующих критериев для проведения достоверного теста Эймса и вынесения рекомендаций по интерпретации результатов испытаний. В настоящее время определение положительного и отрицательного результата производится путем применения различных процедур оценки данных для сравнения чашек Петри содержащих, исследуемое вещество с одновременными контролем, содержащий растворитель. Эти процедуры оценки включают в себя требование к конкретному двукратному увеличению (2 - или 3-кратному, специфичному для штамма бактерий), формальные статистические процедуры или субъективную (экспертную) оценку [5].

Strain	Solvent Control Range <sup>a</sup>
<i>Salmonella</i>	
TA 97	75-200 (-S9)
	100-200 (+S9)
	90-180
TA 98	15-60
	20-50 (±S9)
	30-50
	5-37 (-S9)
	15-42 (+S9)
TA 100	75-200
	75-200 (±S9)
	68-137 (-S9)
	74-156 (+S9)
TA 102	200-400
	258-376
	100-300 (-S9)
TA 104	200-400 (+S9)
	350-420 (-S9)
	200-300 (-S9)
TA 1535	300-400 (+S9)
	3-37
TA 1537	5-20 (±S9)
	4-17 (±S9)
TA 1538	4-31
	5-20 (±S9)
	3-15 (-S9)
	4-23 (+S9)

Рис. 1. Диапазон колоний контроля для зарегистрированных штаммов *Salmonella t.*

Поскольку контроль растворителя (отрицательный) имеет решающее значение для определения положительной или отрицательной реакции, рабочая группа подробно обсудила рекомендуемые диапазоны для контроля растворителя на основе изучения более поздней литературы и недавнего лабораторного опыта участников рабочей группы (рис. 1) [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Быков В.В. Оценка мутагенности в тесте Эймса производного бензопентатиена // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 4. – С. 2-14.
2. Малиновская К.И. Отчет о токсикологическом изучении препарата «ЛИВ-52» / К.И. Малиновская, Е.В. Арзамасцев, С.И. Поликарпова. – Москва, 2001. – 13 с.
3. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В. Генотоксичность и цитогенетическое действие белого фосфора // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2019. – Т. 9. – № 1 (28). – С. 81-94.
4. Прохорова, И.М., Ковалева, М.И., Фомичева, А.Н. Генетическая токсикология: лабораторный практикум / И.М. Прохорова, М.И. Ковалева, А.Н. Фомичева; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль: ЯрГУ, 2005. – 132 с.
5. Dan D. Levy. Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test) // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – №848. – 2019. – Article 403074